

DNA-dependent RNA polymerase

依赖DNA的RNA聚合酶

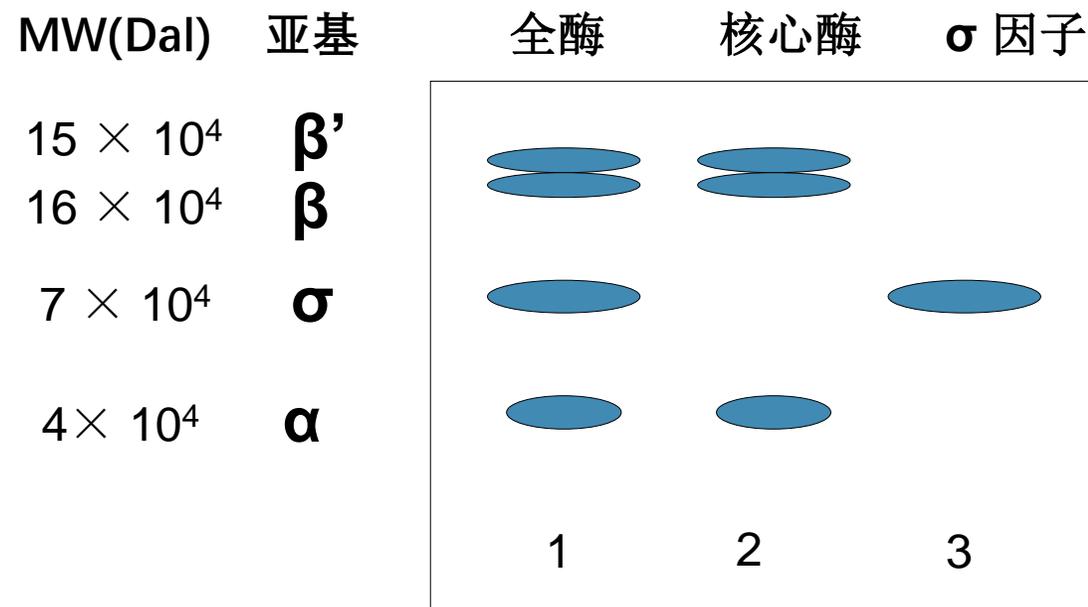
- 多亚基酶
- 以双链DNA为模板
- 以4种核苷三磷酸（NTP）为活性前体
- 以5'→3'方向合成RNA
- 需要Mg<sup>2+</sup>/Mn<sup>2+</sup>为辅因子
- 不需要引物

# RNA聚合酶需要执行的功能

- 识别DNA上的启动子
- 使DNA变性，在启动子处解链形成单链
- 通过阅读启动子序列，确定转录方向和模板链
- 结合单核糖核苷酸
- 当到达转录终止子时，识别终止元件停止转录

# 大肠杆菌的RNA聚合酶

- 只有一个依赖DNA的 RNA聚合酶
- 合成所有类型的RNA
- 直接结合16 bp DNA, 可覆盖60 bp DNA
- RNA合成速率: 40 nt/sec (37°C)
- 形状象一个圆筒通道



SDS-PAGE of RNA polymerase

# 栖热菌属细菌的RNA聚合酶



Crystal structure of RNA polymerase core in *Thermus aquaticus*

## 全酶和核心酶转录活性的比较

DNA template	Relative Transcription Activity	
	Core enzyme(核心酶)	Holoenzyme(全酶)
T4 (native, intact)	0.5	33.0
Calf thymus (native, nicked)	14.2	32.8

$\sigma$  激活转录起始

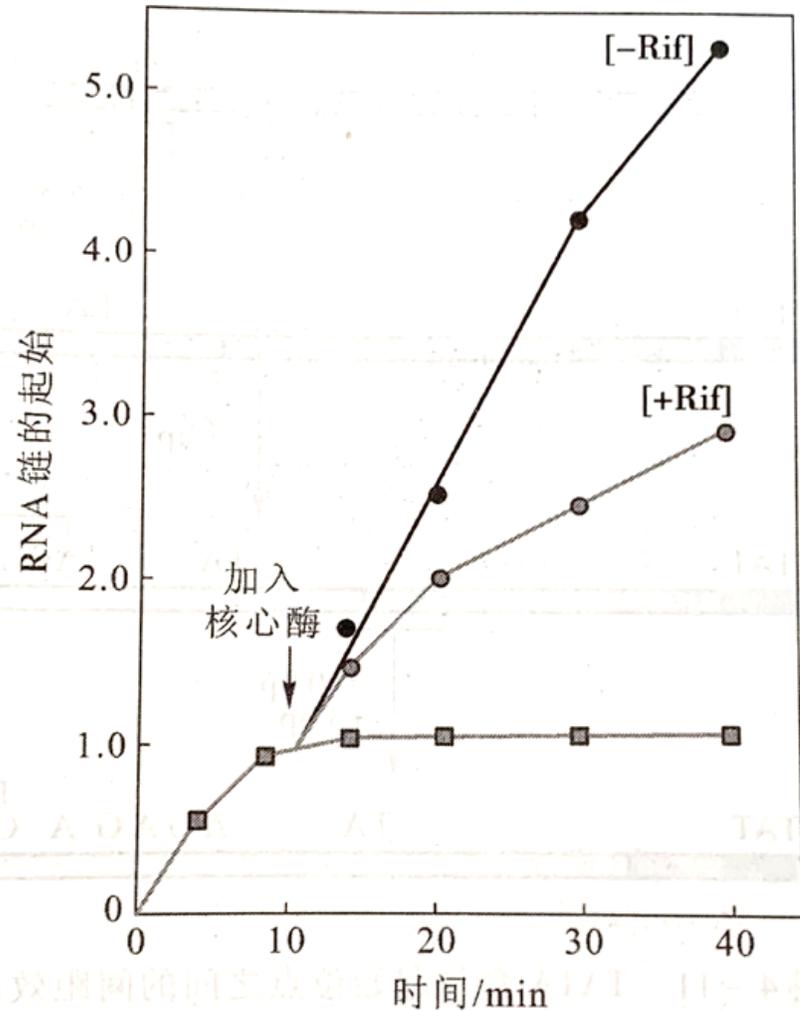
## 全酶和核心酶转录的特异性

---

T7 DNA	Core enzyme(核心酶)	Holoenzyme(全酶)
$K_{assoc.}$ (缔合常数)	$2 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ for all genes	$10^{12} - 10^{14} \text{ M}^{-1}$ for 8 sites near the T7 promoter  $10^8 - 10^9 \text{ M}^{-1}$ for many other sites

---

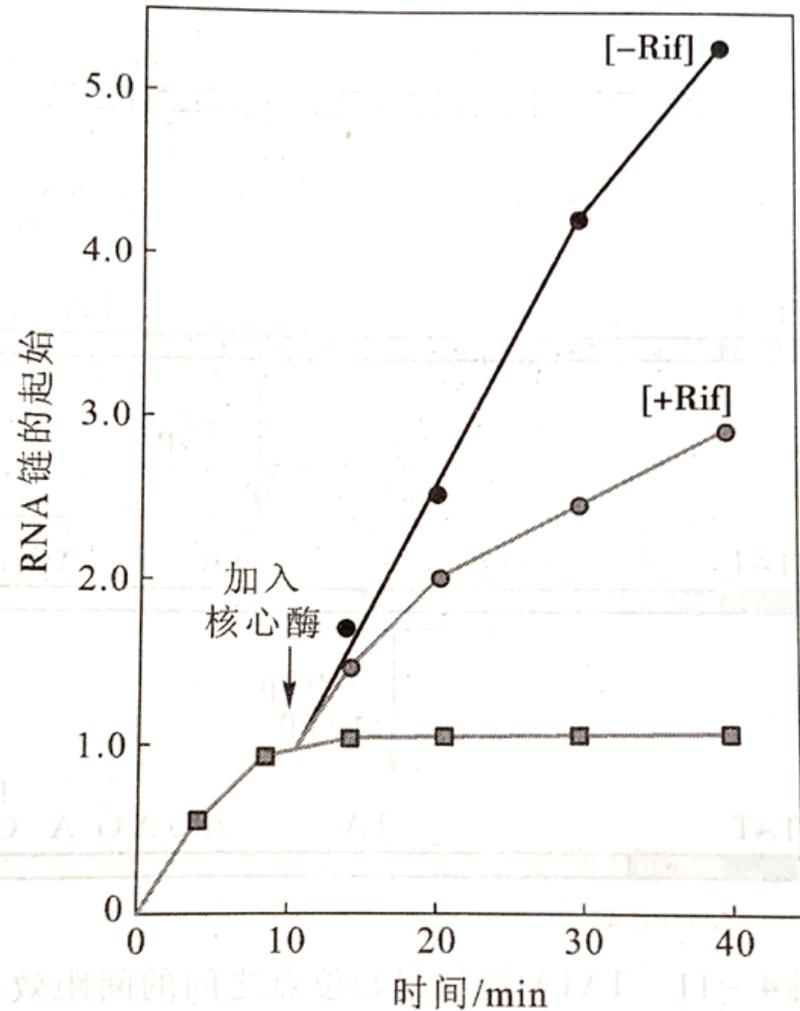
# $\sigma$ 因子脱离和循环使用



- 新加入的核心酶与释放出来的 $\sigma$ 因子组合成新的全酶，起始新的转录。
- 注意：利福平（Rif）可竞争结合转录起始位点；不影响 $\sigma$ 因子与核心酶的组装。

核心酶全部被占用无法从DNA模板上脱落；不再发生新的转录起始事件。

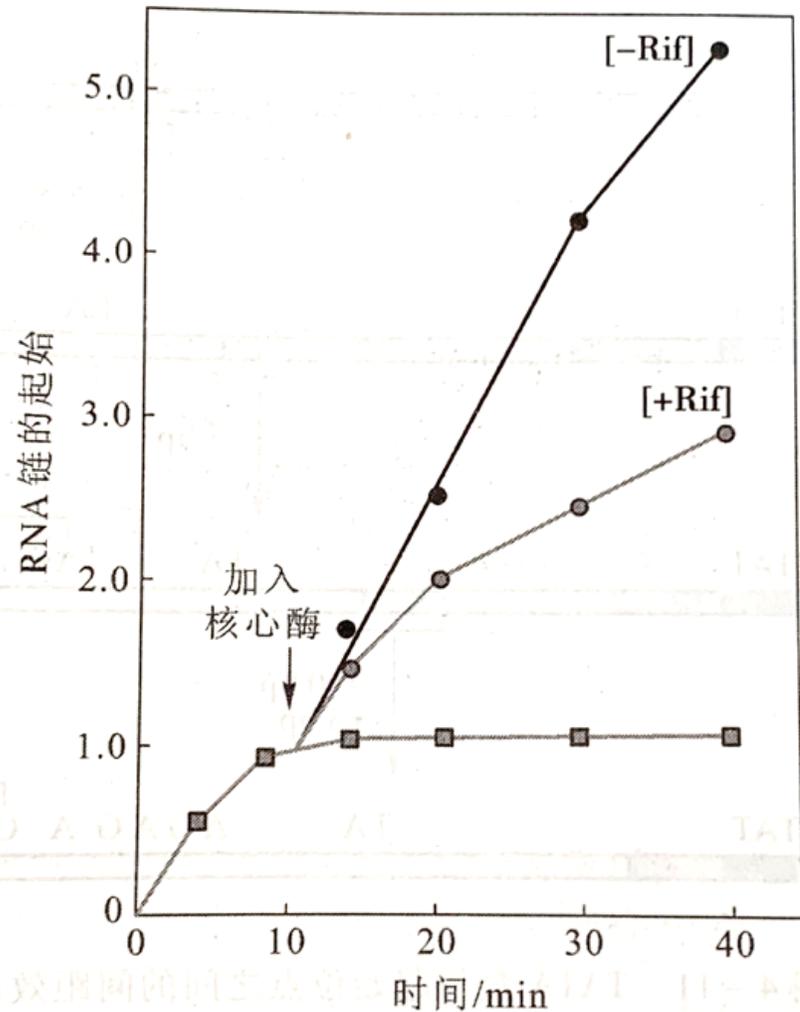
# $\sigma$ 因子脱离和循环使用



- 新加入的核心酶与释放出来的 $\sigma$ 因子组合成新的全酶，起始新的转录。
- 注意：利福平 (Rif) 可竞争结合转录起始位点；不影响 $\sigma$ 因子与核心酶的组装。

不再发生新的转录起始事件，说明不存在完整的全酶。

# $\sigma$ 因子脱离和循环使用



- 新加入的核心酶与释放出来的 $\sigma$ 因子组合成新的全酶，起始新的转录。
- 注意：利福平（Rif）可竞争结合转录起始位点；不影响 $\sigma$ 因子与核心酶的组装。

核心酶全部被占用无法从DNA模板上脱落；不再发生新的转录起始事件。

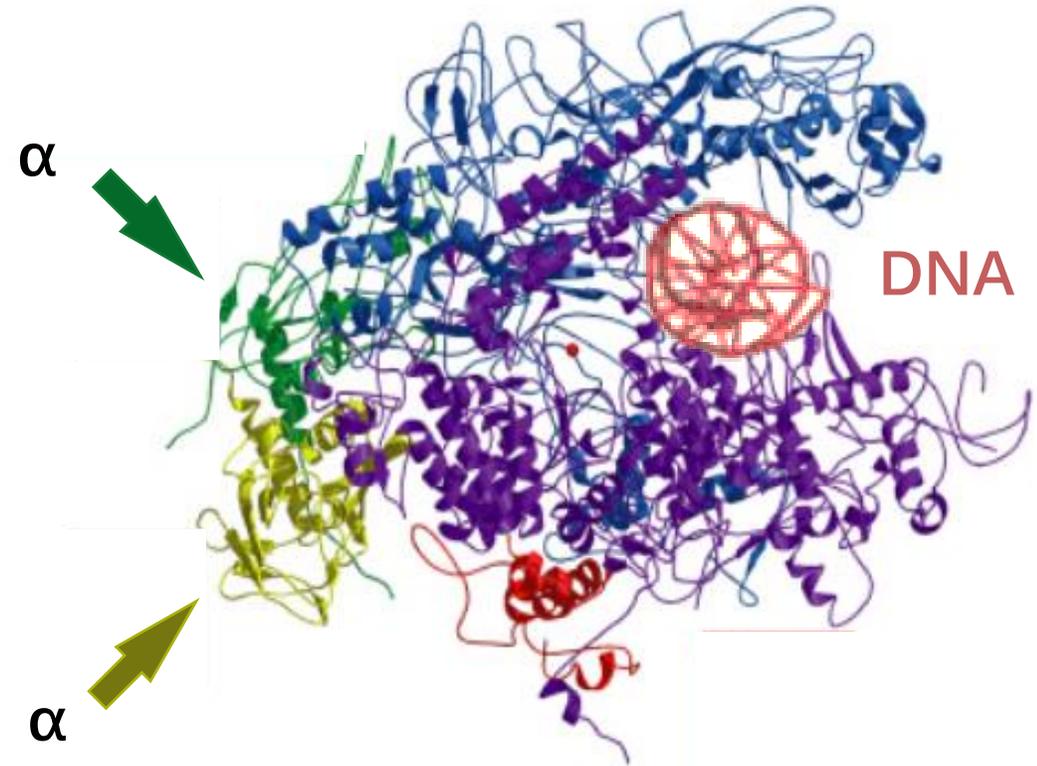
---

$\sigma$ subunit	Biological process involved	Promoter elements
$\sigma^{70}$	General	.....TTGACA ..... TATAAT.....
$\sigma^{32}$	Heat shock	.....TCTCNCCCTTGAA ..... CCCCATNTA.....
$\sigma^{54}$	N metabolism	.....CTGGNA ..... TTGCA.....

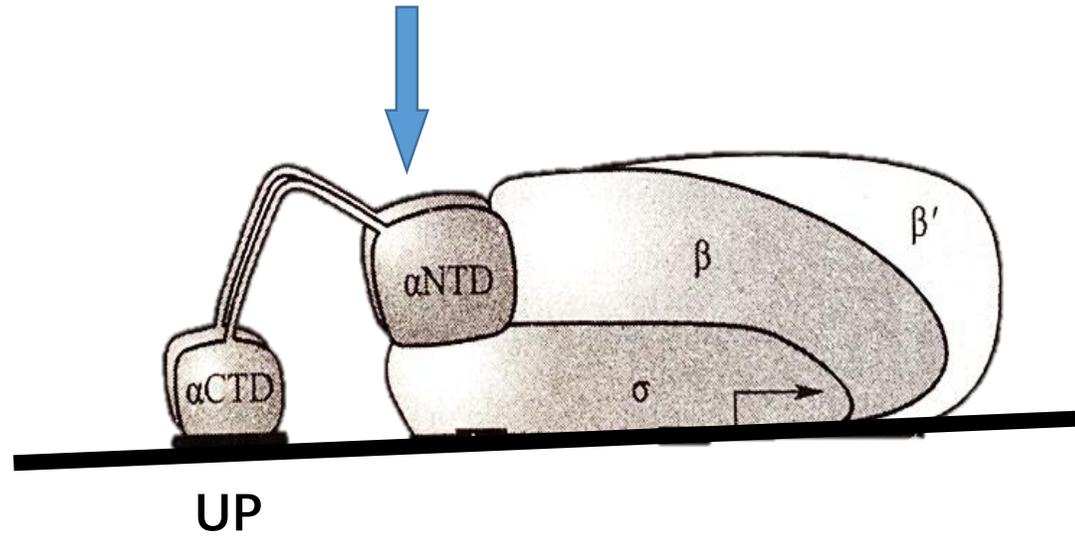
---

# $\alpha$ 亚基

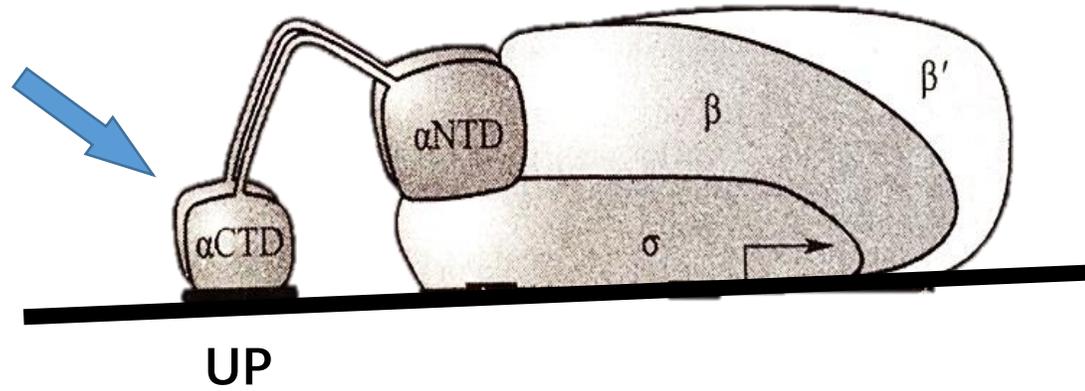
- 由 *rpoA* 基因编码
- 是核心酶组建因子
- 作用于起始阶段
- 识别和结合上游启动子元件



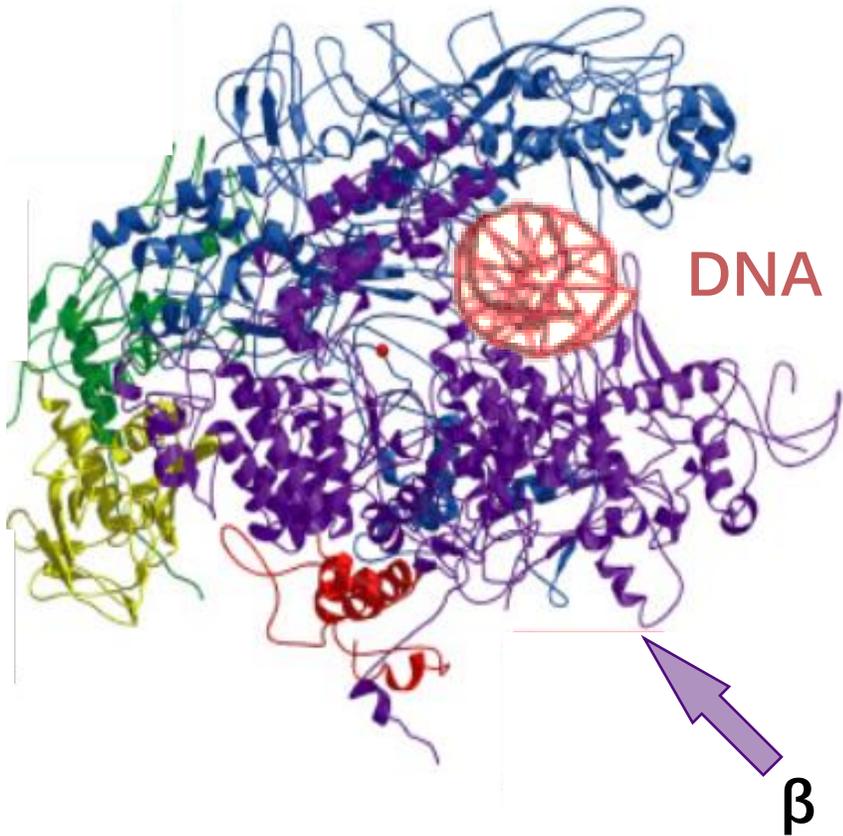
$\alpha$  亚基N-末端负责与其它亚基结合， 组建核心酶



$\alpha$  亚基C-末端结构域识别上游启动子元件 (UP element)

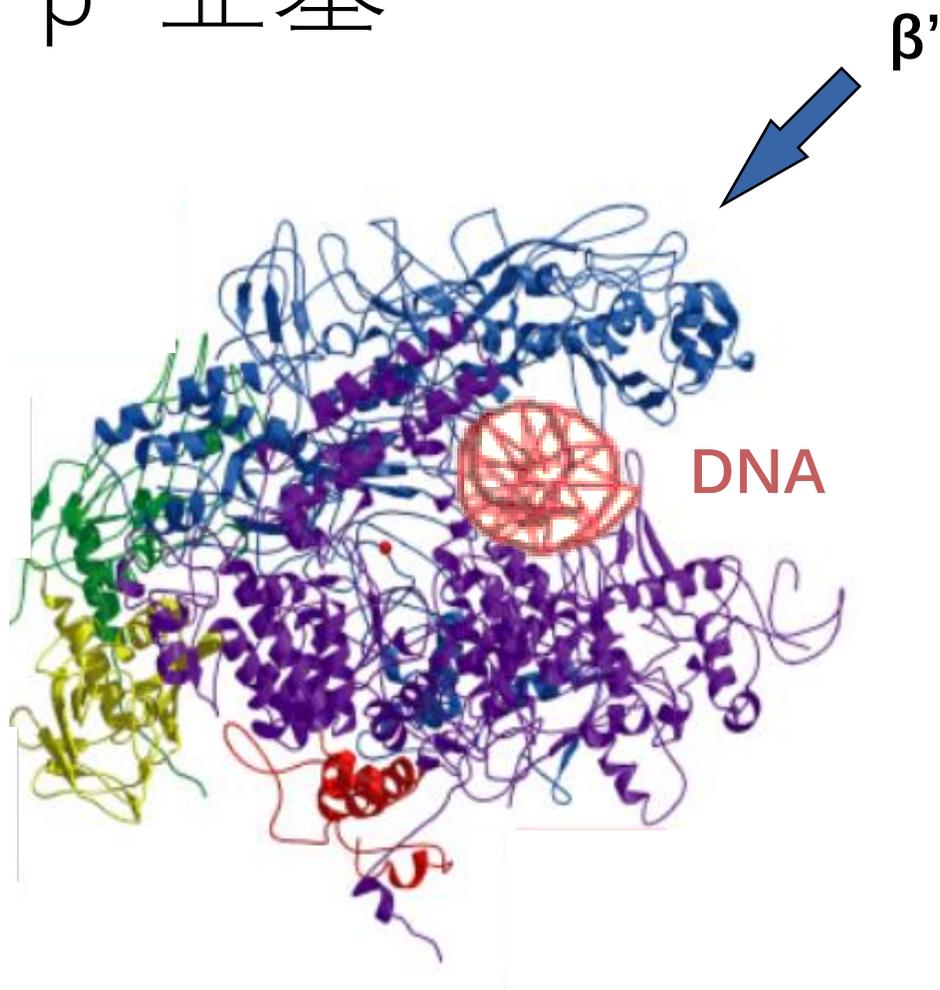


# $\beta$ 亚基



- 由 *rpoB* 基因编码
- 起始阶段，延伸阶段（主要）
- 与游离NTP结合，引导之与模板链上对应的碱基配对
- 两个活性位点：
  - 起始位点 (I)：对利福平敏感；只专一地与 ATP 或 GTP 结合，决定了RNA的第一个核苷酸只能是A或G
  - 延伸位点 (E)：对利福平不敏感；没有对NTP的专一性选择。

# $\beta'$ 亚基



- 与 $\beta$ 亚基一起构成催化中心
- 由*rpoC*基因编码（突变会影响所有转录阶段）
- 起始阶段，延伸阶段
- 强碱性亚基
- 促进酶与非模板链的结合

$\beta'$  起始和延伸；非特异地识别和结合模板；活性中心

$\sigma$  起始；特异识别和结合启动子，并确定DNA模板链

$\alpha$  起始；组建RNA聚合酶；识别启动子UP元件

$\beta$  起始和延伸；引导单核糖核苷酸与模板链配对；活性中心

